

FACSETE
FACULDADE SETE LAGOAS

MARCUS VINICIUS ROCHA MARTINS

ANÁLISE *IN VITRO* DE CIMENTO IONOMÉRICO MODIFICADO COM
NANOPARTICULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO.

SETE LAGOAS

2019

MARCUS VINICIUS ROCHA MARTINS

ANÁLISE *IN VITRO* DE CIMENTO IONOMÉRICO MODIFICADO COM
NANOPARTICULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO.

Monografia apresentada ao Curso De
Especialização *Lato Sensu* da FACSETE
como requisito parcial para conclusão do
Curso de Especialização em Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Vitor César Dumont

SETE LAGOAS

2019

Ficha catalográfica

Martins, Marcus Vinícius Rocha.

Análise *in vitro* de cimento ionomérico modificado com nanopartículas de fosfato de cálcio. / Marcus Vinícius Rocha Martins. – 2019.

39f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Vitor César Dumont.

Monografia (especialização) - Faculdade de Tecnologia de Sete Lagoas, 2019.

1. Cimento ionomérico. 2. Nanopartículas. 3. Revisão de literatura.

I. Título

II. Vitor César Dumont.

FACSETE
FACULDADE SETE LAGOAS

Monografia intitulada “*Análise in vitro de cimento ionomérico modificado com nanopartículas de fosfato de cálcio.*” de autoria do aluno Marcus Vinícius Rocha Martins, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Vitor César Dumont – FACSETE – Orientador

Nome do examinador – instituição a qual pertence

Sete Lagoas, 10 de abril de 2019.

Dedico aos meus pais, Ana e Daniel, meu porto-seguro, responsáveis pela minha formação humana; à Alessandra, Luiza e Rafaella, minhas maiores incentivadoras.

RESUMO

O cimento de ionômero de vidro (CIV) tornou-se um biomaterial de destaque na odontologia atual, apresentando no mercado variados tipos com funções diferentes, atendendo diversas especialidades. Apesar das excelentes características que o cimento possui, pesquisas vem constantemente realizando modificações no material, melhorando seus pontos fracos. No presente estudo realizamos uma modificação do ionômero de vidro, acrescentando nesse partículas nanométricas de fosfato de cálcio (nCaP's), adicionadas ao pó do biomaterial durante sua manipulação manual, resultando em um cimento homogêneo. Foram produzidos corpos de prova, os quais foram submetidos a ensaio mecânico, realizando testes de resistência a compressão, tração diametral. Os corpos de prova foram submetidos a microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectrômetro de energia dispersiva, caracterizando a morfologia do composto, além dos testes de citotoxicidade (3-(4,5-dimethylthiazol-2yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (MTT) e Live/Dead. Constatamos que o CIV/nCaP's apresentou um aumento estatisticamente considerável na resistência a compressão e tração diametral, tendo aumentado também a viabilidade celular; quando o grupo CIV/nCaP's é comparado ao grupo controle, tornando esse biocomposito mais biologicamente estável.

Palavras-chaves: biomecânica; ionômero; cimento; fosfato; cálcio

ABSTRACT

Glass ionomer cement (CIV) has become a prominent biomaterial in today's dentistry, having today several types with different functions, attending several specialties. Despite the excellent characteristics that cement has, research is constantly making changes in the material, improving its weaknesses. In the present study, we performed a modification of the glass ionomer, adding in that nanometric calcium phosphate particles (nCaP's), added to the biomaterial powder during its manual manipulation, resulting in a homogeneous cement. Test specimens were produced, which were submitted to mechanical test, performing tests of resistance to compression, diametral traction. The specimens were submitted to scanning electron microscopy coupled to a dispersive energy spectrometer, characterizing the morphology of the compound, as well as cytotoxicity tests (3- (4,5-dimethylthiazol-2yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (MTT) and Live / Dead. We found that the CIV / nCaP's presented a statistically significant increase in the resistance to compression and diametral traction, and also increased cell viability; when the CIV / nCaP's group is compared to the control group, making this biocomposite more biologically stable.

Keywords: biomechanics; ionomer; cement; phosphate; calcium

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca(OH)}_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C	21
Figura 2	A estrutura de cristal de hidroxiapatita idealizada.....	23
Figura 3	Espectros de FTIR com as bandas de absorção no infravermelho.....	26
Figura 4	Análise morfológica de nCaP.....	32
Figura 5	Análise morfológica de CIV/nCaP.....	33
Figura 6	Espectros de DRX da referência CaP.....	33
Figura 7	Ensaio de MTT.....	34
Figura 8	Ensaio Live/Dead.....	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	PROPOSIÇÃO.....	16
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
5	RESULTADOS	31
6	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

Desenvolvido por Wilson e Kent (1971) e comercializado por volta de 1975, o cimento de ionômero de vidro (CIV) tornou-se um biomaterial de destaque na odontologia. Com a utilização de tal material e a intensificação de pesquisas sobre esse, temos hoje disponíveis na área odontológica cimentos ionoméricos de variados tipos, tais como os cimentos ionoméricos modificados por resina, com funções e indicações diferentes, e que atendem diversas especialidades.

Como destaque em suas características temos propriedades físicas e químicas favoráveis à estrutura dental, capacidade de adesão a dentina remanescente, biocompatibilidade, ação antibacteriana e liberação de flúor (Anusavice, 1996). Esse cimento também está relacionado ao ganho mineral e aumento da dureza do tecido dentinário pelos minerais que o compõem (Dias *et al.*, 2016).

Apesar das excelentes características que possui, pesquisas com o CIV têm constantemente realizado modificações no material, buscando uma melhora em algumas de suas propriedades, como a baixa resistência a abrasão, friabilidade, manuseio e técnica do material (Liporoni *et al.*, 2003), alta corrosão em meios com pH baixo, as quais deterioram a superfície do cimento, diminuindo sua resistência ao meio bucal (LIMA *et al.*, 2017). O tempo final de presa do material também é um limitador para uso como restaurador definitivo, já que a reação ácido-base que o define ocorre por até 24 horas após a sua manipulação, o que o expõe a alterações de sinérese (perda de água para o meio) e embebição (ganho de água do meio) (Craig & Powers, 2004), alterando sua resistência final.

Como modificações para os CIV convencionais, encontramos hoje cimentos em que foram adicionadas partículas metálicas, visando aumentar sua resistência, porém com uma perda em sua capacidade estética (Manfio *et al.*, 1994). Também encontramos cimentos modificados por resina, sendo esses o CIV acrescentado de monômeros resinosos em um ativador fotossensível. Esse tipo de material possui estética e resistência final consideravelmente melhores que os ionômeros convencionais, porém de custo maior, requerem uma técnica mais apurada e

possuem contração de polimerização, não presente nos ionômeros convencionais (Mount, 1999; Xie *et al.*, 2004). Apesar de alguns estudos apontarem, um estudo recente (Almeida et al, 2017) demonstra que CIV convencionais apresentam valores de dureza estatisticamente superiores aos modificados por resinas, sendo que o tipo de acabamento e polimento interferiu na superfície dos dois tipos de CIV (convencional e modificados).

O mercado odontológico, em uma tendência a facilitar a vida do profissional e de melhorar as características do material, tenta mudar a manipulação dos materiais saindo do método pó / líquido de manipulação manual, para um formato pré dosado e encapsulado do CIV, tanto o convencional quanto os modificados por resina. Em seu estudo, (SOUSA et al, 2017) demonstra, porém, que é possível se obter uma resistência ao desgaste igual ou até maior no sistema pó / líquido do CIV convencional, quando este é comparado com o modificado por resina encapsulado, sendo que, entre os CIVs modificados por resina, os sistemas pó / líquido e encapsulado não diferiram entre si.

Temos também como opção para o tratamento restaurador atraumático (ART) os CIV com partículas de pó nanométricas como o *Glass Carbomer*, que demonstrou em estudo (LOPES et al, 2016) um valor estatisticamente superior da sua microdureza, quando comparado com outro CIV modificado por resina. Esse mesmo estudo também demonstra que um aumento de calor fornecido ao material durante a sua cura não melhora suas características mecânicas quando esses foram utilizados para restaurações de dentes.

Atualmente, entende-se que uma maior quantidade de partículas em uma escala menor (nanopartículas) podem fornecer melhoras nas características quando incorporadas aos biomateriais (VIDOTTI, Marcio e TORRESI, 2008) que são utilizados na odontologia.

No estudo de MENEZES-SILVA et al (2017), o autor demonstra *in vivo* que partículas de microfibras de celulose e nano cristais do mesmo material mantiveram a biocompatibilidade do cimento, sendo que as partículas com tamanho nanométrico apresentaram uma melhora estatisticamente significativa do reparo tecidual , apresentando uma evolução do material quando comparado aos demais avaliados no seu estudo.

No presente estudo será realizado uma modificação no CIV convencional, utilizando de partículas de fosfato de cálcio em escala nanométrica, buscando uma melhora nas características do material, avaliando as suas propriedades mecânicas, caracterizando a estrutura, morfologia, e cristalinidade, bem como avalia a toxicidade do biocomposito.

2. PROPOSIÇÃO

O presente estudo relata a síntese de CIV modificado com nanopartículas de fosfato de cálcio (CIV/nCaP), avalia as propriedades mecânicas, caracteriza a estrutura, morfologia, e cristalinidade, bem como avalia a toxicidade do biocompósito.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ionômero de vidro

O cimento de ionômero de vidro (CIV) surgiu de estudos de Wilson Kent, chegando ao mercado em 1975, tendo se caracterizado pela capacidade de se aderir quimicamente as estruturas dentárias, além de sua ação bacteriostática sobre os *Streptococcus mutans*. Esse cimento derivou-se da união das características do cimento de silicato e do policarbonato de zinco, numa tentativa de se obter num único material boas características dos precursores, tais como o coeficiente de expansão térmica próximo ao do dente, liberação de flúor na cavidade oral, capacidade de se aderir a estrutura dental quimicamente devido à presença do ácido poliacrílico. (WILSON, 1972; Bilgin, 1998; Hamilton, 1990; Simmons, 1983)

Devido ao CIV apresentar características como liberação de flúor, coeficiente de expansão térmica próxima ao dente e adesão química a estrutura dentaria, este cimento tem como indicação de uso o preenchimento de cavidades como material restaurador, sendo a primeira opção de escolha no tratamento restaurador atraumático (Tyas,2006)

Suas propriedades mecânicas também o permitem ser utilizado como material restaurador em selamentos de cicatrículas e fissuras, restaurações classe III e IV, base para técnica do sanduiche, material de forramento, núcleos de preenchimento e agente cimentante para próteses parciais ou unitárias fixas e acessórios ortodônticos. (MANDARINO, 2003)

Sendo considerados materiais frágeis, com baixa resistência a tração e ao cisalhamento, os CIV são contraindicados como material restaurador em áreas de grandes cargas oclusais, como restaurações classe II onde a crista marginal tenha sido comprometida e áreas de cúspides. A opacidade é um fator que contraindica o

material em áreas de priorização estética, como restaurações classe 4 (MANDARINO, 2003).

Além dessas, os CIVs apresentam desgastes sofridos pelo tempo na cavidade bucal; sejam eles por ação de ácidos da dieta ou desgaste pelo contato da estrutura dental com o material, o que aumentam a rugosidade superficial do mesmo. Esse fator poderá acarretar em manchas do material e transformando-o num foco de retenção e maturação de biofilme, podendo desencadear inflamação gengival, diminuir sua longevidade e comprometer sua estética. (SOUSA et al, 2017)

3.2 Propriedades

Os CIV, quando dentro de uma cavidade dental, apresenta ligações químicas com a estrutura dentaria (esmalte e dentina). Esse fator acontece devido a ligação criada entre os grupos carboxílicos dos ácidos presentes na reação do cimento (COOH) e os íons Ca^{2+} liberados da estrutura dentaria, sendo essa adesão maior no esmalte devido a maior mineralização desse, quando comparado a dentina. A adesividade dos CIV pode ser alterada devido as variáveis a qual o cimento está submetido, tais como estrutura dental adjacente, manipulação e inserção do material, desmineralização da área a ser preenchida e proporção pó/liquido do material. (VIEIRA et al, 2006; MANDARINO, 2003; PASCOTTO, 2004)

Como uma propriedade singular, os CIVs apresentam como característica a liberação de flúor no meio bucal. A liberação desse íon se dá principalmente devido a sua interessante reação de presa (geleificação). Através da liberação do íon flúor, o cimento de ionômero de vidro mantém ao seu redor um ambiente que dificulta a desmineralização, já que o flúor interfere no metabolismo das bactérias e também se liga ao esmalte dental, tornando-o mais resistente aos fatores de desmineralização ao qual os dentes estão susceptíveis (TENUTA et al, 1997).

A utilização do flúor não somente melhora as propriedades de manipulação e resistência, como também confere a capacidade de prevenir lesões cariosas ao material, dificultando a instalação de novas lesões (MARTINS et al, 2006), porém a liberação do íon pelo CIV pode ser afetada, sendo suas variáveis a composição do cimento, a proporção pó/liquido utilizada na manipulação do material, o método de manipulação, o pH do ambiente onde o cimento é armazenado, e quantidade de flúor disponível para liberação, sabendo-se que os CIV tem a capacidade de serem recarregados pelo íon e continuar sua liberação ao longo do tempo (PEREIRA et al, 1999).

Os materiais restauradores, da mesma forma que as estruturas dentárias, apresentam um coeficiente de expansão térmica típico. Este parâmetro caracteriza o comportamento de sua alteração dimensional frente as alterações térmicas presentes no meio bucal. Essas alterações podem causar espaços nas interfaces material/dente, sendo essas proporcionais aos coeficientes de dilatação ou contração de cada um. Essas interfaces são o caminho para a penetração de bactérias e fluidos orais, que podem causar inflamação pulpar e recidiva de cárie (PASCOTTO, 2004).

Dentre os materiais odontológicos, os CIV são os que apresentam um coeficiente de expansão térmica mais parecido com o das estruturas dentais, sendo que, dentro dos variados tipos de cimento de ionômero de vidro, os convencionais apresentam essa característica mais próxima ao do dente, enquanto os CIV modificados por resina estão mais próximos de materiais como as resinas compostas ou amalgamas (MANDARINO, 2007).

A biocompatibilidade é a capacidade que um material em desempenhar a função para a qual foi desenvolvido em relação a uma terapia medica ou odontológica, não desencadeando um efeito indesejado local ou sistêmico devido ao seu uso, produzindo uma resposta celular benéfica, otimizando a terapia a qual foi implicado (ANUSAVICE 1996).

Os CIV apresentam uma boa compatibilidade biológica devido ao seu efetivo vedamento marginal, esse impedindo a penetração dos fluidos orais e bactérias nas margens da restauração, impedindo a ação desses efeitos deletérios a estrutura dental. A liberação de flúor pelo cimento, baixo pH durante o início da reação, adesão

química a estrutura dental e liberação de cátions metálicos também aumentam a biocompatibilidade do material (VIEIRA et al, 2006).

3.3 Fosfatos de cálcio

De acordo com DUMONT (2017), em 1920 data o primeiro relato de uma combinação de materiais de Fosfato de Calcio (CaP) para reparo de defeitos ósseos. 30 anos depois outros pesquisadores sugeriram, no segundo relato do uso do biomaterial, que a hidroxiapatita (HA) ou a fluorapatita tivessem utilidade para implantes ósseos. Entre os anos de 76 e 86 foram realizados trabalhos para desenvolvimento e comercialização de CaP (focando-se mais na HA) como biomaterial para tratamentos de aumento, reparo e substituição dos tecidos ósseos.

Com base nos dados colhidos dos sistemas de caracterização, o processo de mineralização pode ser dividido e representado em quatro etapas: a construção do substrato (íons e matriz), a nucleação da superfície (associada à aglomeração e agregação), o crescimento da solução e a mineralização. (DUMONT, 2017). O autor também afirma que diferentes fases de CaP, tabela NUMERO X, podem ser obtidas dependendo de diversas variáveis, como impurezas na mistura, presença de água e a temperatura da reação. O comportamento da degradação e a bioatividade dependem também da relação Ca/P, da pureza da fase e sua cristalinidade.

Porém, independente dessas variáveis, os CaP's são relativamente insolúveis em pH fisiológico (7,4), sendo que essa característica é inversamente proporcional ao pH do ambiente, ou seja, quanto menor o pH, mais solúvel são os CaP's. (BOSE e TARAFDER, 2012).

Hoje, os fosfatos de cálcio se apresentam como os materiais mais estudados e utilizados como biomaterial de reposição. Dentre as suas propriedades, a solubilidade

em água é aquela explorada nas diferentes formas de se aplicar o biomaterial e que pode prever o comportamento desse in vivo. Dessa forma, quanto menor for a solubilidade dos CaP's, maior deve ser a razão Ca/P. Analisando-se as isotermas de solubilidade de fases de fosfatos de cálcio (figura NUMERO Y) percebe-se uma inclinação negativa das curvas nas regiões ácidas e neutras, refletindo o fato de que os compostos aumentam sua solubilidade conforme o pH diminui. Dessa forma, a solubilidade dos CaP's e sua degradação in vivo, no pH fisiológico, é dada pela seguinte ordem MCPM > α -TCP > DCPD > DCP > OCP > β -TCP > HA (GUASTALDI e APARECIDA, 2010).

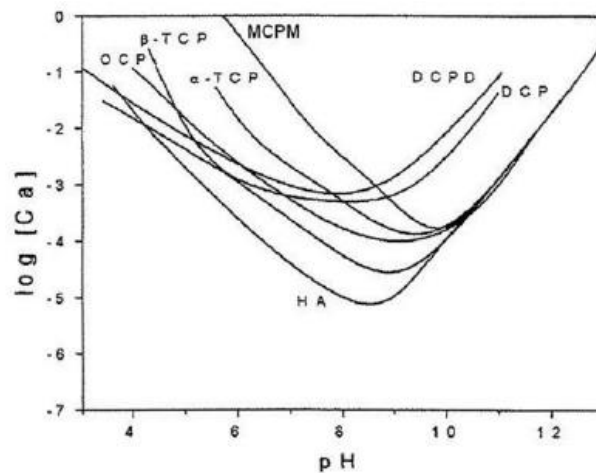


Figura 1: Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C : isoterma de solubilidade mostrando $\log[\text{Ca}]$ e pH de soluções em equilíbrio com vários sais. Fonte: Adaptado de GUASTALDI e APARECIDA, 2010.

Tabela 1: Diferentes Fosfatos de Cálcio

Fosfatos de Cálcio		Abreviatura	Fórmula química	Razão molar Ca/P
Fosfato monohidratado	monocálcio	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Fosfato monocálcio		MCP	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
Fosfato dicálcio dihidratado		DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato dicálcio		DCP	CaHPO_4	1,0
Fosfato octacálcio		OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Fosfato α -tricálcio		α -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato β -tricálcio		β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato de cálcio amorfo		ACP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2-2,2
Hidroxiapatita deficiente de cálcio		CDHA	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x} (0 < x < 1)$	1,5-1,67
Apatita carbonada		CA	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3$	1,67
Hidroxiapatita		HÁ	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Oxiapatita		OXA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6^{\circ}$	1,67
Fosfato tetracálcio		TTCP	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0

Fonte: BOSE e TARAFDER, 2012

3.3.1 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HA) faz parte do grupo mineral apatita e sua fórmula mais empregada é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, apresentando estequiometria com razão Ca/P de 1,67. Embora a estrutura da apatita mineral seja conhecida desde 1930, a estrutura da HA foi realmente esclarecida em 1964, quando as posições dos átomos de hidrogênio foram estabelecidas pela difração de raios-X. Desde então, representações gráficas de computador levaram à ideia da forma da HA em estrutura cristalina hexagonal, com eixo $a = b = 0,9422\text{nm}$ e eixo $c = 0,6880\text{nm}$. Os grupos OH estão ordenados no eixo c e os íons Ca^{2+} ocupam duas posições diferentes, conforme Figura 1.9 (JONES, 2001).

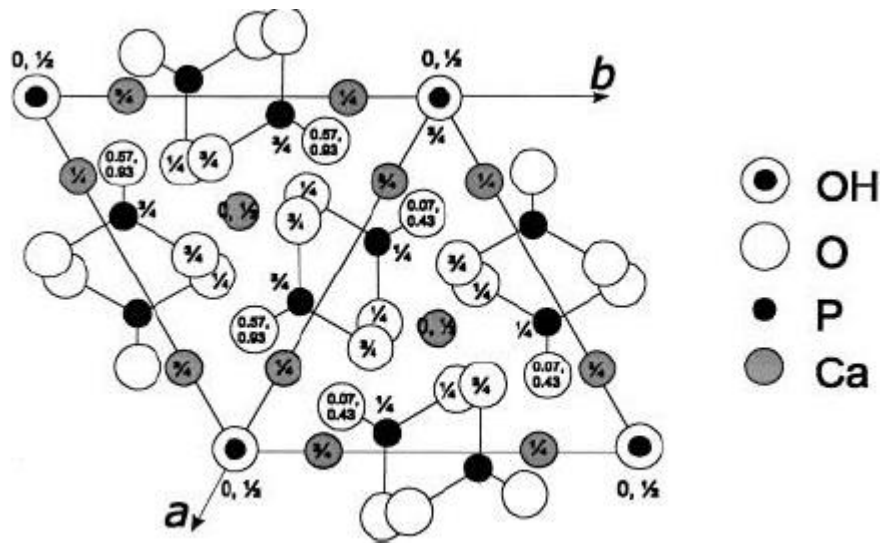


Figura 2: A estrutura de cristal de hidroxiapatita idealizada, vistos ao longo do eixo c. Fonte: Adaptado de JONES, 2001.

A HA é considerada uma das cerâmicas mais biocompatíveis, devido à semelhança com os constituintes minerais dos ossos e dentes humanos. Esse material tem sido sintetizado de diversas formas, tais como blocos, grânulos ou recobrimentos, igualmente densos ou porosos, usando materiais precursores de custo baixo e disponível no comércio nacional. Estes fatores geram um produto final bastante acessível, já que o grama de HA de boa qualidade comercializada no mercado nacional ou importada ainda tem um custo bastante elevado (MARTINS *et al.*, 2010).

A HA é a fase mais frequente e termodinamicamente estável em pH fisiológico, sendo o material utilizado pelos vertebrados para compor o esqueleto, devido à sua capacidade de atuar como reserva de cálcio e fósforo. A superfície da HA permite a interação de ligações do tipo dipolo, fazendo com que moléculas de água e, também proteínas e colágeno sejam adsorvidos na superfície (MACHADO *et al.*, 2010).

A HA sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses, daí o grande interesse em sua produção (COSTA *et al.*, 2009). Além disso, a composição uniforme, a segurança comprovada (não é tóxica, nem alergênica ou carcinogênica) e a

microestrutura completamente controlável são características vantajosas desse material sintético (MARTINS *et al.*, 2010).

O grande número de publicações a respeito da produção e sinterização da hidroxiapatita relata variações no comportamento e propriedades do material de acordo com o método utilizado. Os pós-cerâmicos podem ser obtidos por via seca ou úmida. Alguns pesquisadores chamam atenção para o processo por via seca, apontando como grande vantagem a alta reprodutibilidade (HONDA *et al.*, 1990; VARM *et al.*, 2005), onde a reação de estado sólido resulta em pós-cerâmicos muito finos e homogêneos. Outros destacam a via-úmida pela sua relativa simplicidade e defendem que a técnica tem baixo custo, além de permitir a obtenção de biomaterial homogêneo, reativo e de composição estequiométrica melhor definida, possibilitando controle nas condições de síntese (RODRIGUEZ-LORENZO *et al.*, 2001). Porém, em consequência de modificações sofridas na produção e sinterização da HA, propriedades tais como dissolução e reabsorção são afetadas. Assim, mesmo que se consiga controlar todos os parâmetros que governam a produção, o uso clínico da hidroxiapatita pode ser limitado por sua lenta biodegradação (DE GROOT, 1980). Estudos por longos períodos de tempo têm mostrado que a hidroxiapatita começa a ser reabsorvida gradualmente apenas após 4 ou 5 anos de implantação. A reabsorção é uma característica desejada para um biomaterial em alguns tipos de implantes, de modo que ele possa ser degradado lentamente, enquanto é repostado por osso em formação, evitando a presença de material estranho ao organismo durante longos períodos de tempo (NORDSTROM *et al.*, 1990).

A HA e outras formas de fosfatos de cálcio possuem habilidade de manter e estimular o crescimento de células humanas; a presença de poros com tamanho variando entre 100 e 200 μm permite a interconectividade favorecendo o crescimento de osteoblastos acima e dentro dos poros (MENDELSON *et al.*, 2010). O grande desafio da engenharia de tecidos é definir as condições de processamento que resultem na presença de microporosidade de aproximadamente 1 μm nas paredes dos poros para a fixação efetiva das células e crescimento interno. Já o controle da porosidade também permite grande potencial no desenvolvimento de implantes para a liberação lenta de agentes terapêuticos. Além disso, a estrutura porosa da HA funciona como suporte passivo a neoformação vascular, o que leva a proliferação de fatores indutores da aposição óssea. Sua superfície porosa parece fornecer um

substrato adicional a proliferação do tecido ósseo. Contudo, a hidroxiapatita permite a junção, proliferação e migração de células ósseas, o que resulta em formação de novo osso, em oposição direta ao biomaterial (SAKANO *et al.*, 2001).

A estrutura cristalina da HA lhe confere uma de suas mais importantes propriedades, a facilidade de substituições catiônicas e aniônicas, sendo referida como capaz de incorporar metade dos elementos da tabela periódica em sua estrutura. Íons Ca^{2+} podem ser substituídos por um grande número de cátions metálicos mono e bivalentes, tais como K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , e íons trivalentes. A diferença de valência causada por qualquer substituição requer uma redução na carga aniônica para manter o balanço de carga. Íons PO_4^{3-} podem ser substituídos por íons AsO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , SiO_4^{4-} , VO_4^{3-} e os íons OH^- por íons CO_3^{2-} , F^- , Cl^- . Todas as substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da HA que, por sua vez, alteram a degradação e o comportamento in vivo. O íon CO_3^{2-} pode fazer tanto substituições no sítio do OH^- , originando a denominada HA carbonatada do tipo A, quanto no sítio do PO_4^{3-} , originando HA carbonatada do tipo B. Para estas substituições ocorrem efeitos opostos nos parâmetros de rede: substituição do tipo A causa expansão no eixo a e contração no eixo c, enquanto que a substituição do tipo B causa contração no eixo a e expansão no eixo c. Além disso, a substituição do tipo B acarreta também a diminuição do tamanho dos cristais e da cristalinidade. As substituições catiônicas por Sr^{2+} e Mg^{2+} causam aumento da solubilidade (REY *et al.*, 2007).

A estrutura molecular da HA apresenta excitações vibracionais resultantes das ligações interatômicas fortes (ligações covalentes) dos grupos funcionais específicos. O perfil do espectro de FTIR de HA mostra bandas de absorção mais intensas em 964cm^{-1} , 1044cm^{-1} e 1090cm^{-1} pertencentes aos grupos de fosfato da HA (Figura NUMERO J) (SANTOS *et al.*, 2005).

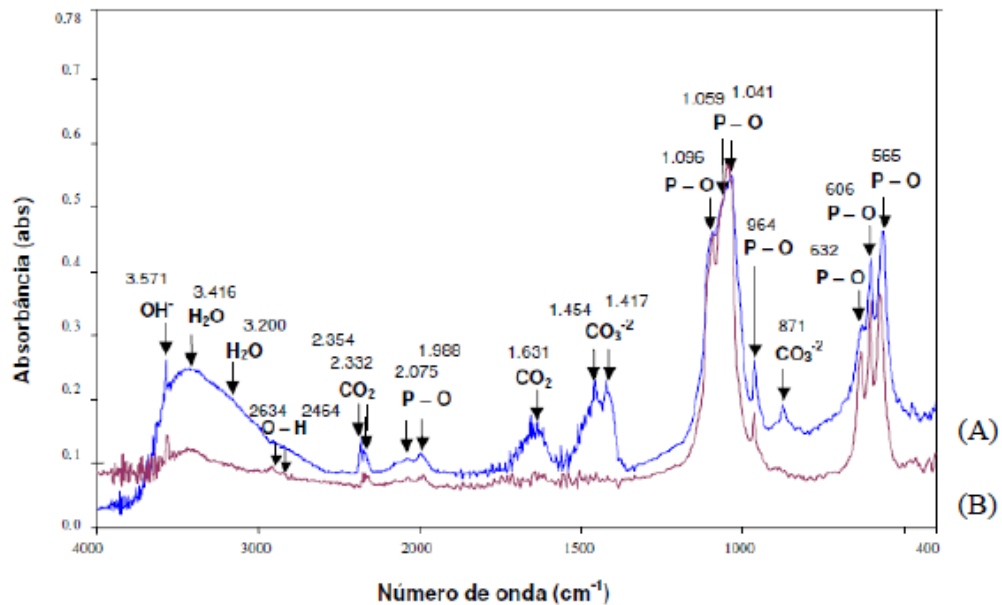


Figura 3: Espectros de FTIR com as bandas de absorção no infravermelho referentes às ligações químicas dos grupamentos funcionais da composição da HA (A) e HA/ β -TCP (B). Fonte: Adaptado de SANTOS *et al.*, 2005.

Do ponto de vista biomimético, apesar de todas as características favoráveis para a substituição óssea da hidroxiapatita, o recente progresso do ramo da Ciência e Engenharia dos Materiais mostra que compósitos de nanohidroxiapatita podem potencialmente melhorar a biocompatibilidade e propriedades mecânicas dos materiais de enxerto ósseo (SANTOS *et al.*, 2005).

3.3.2 β -TCP – fosfato β -tricalcio

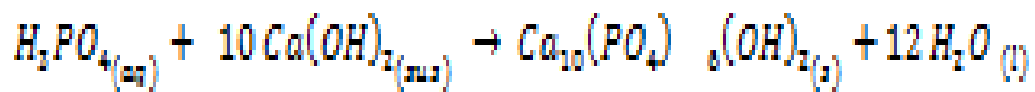
Entre os fosfatos de cálcio que representam velocidade de reabsorção apreciável, um dos mais estudados é o fosfato de cálcio tribásico com razão Ca/P igual a 1,5. Este material é biodegradável e biocompatível, sendo parcialmente

reabsorvido entre 6 e 15 semanas após o implante, dependendo da porosidade. A taxa de biodegradação do material é reduzida conforme a diminuição da razão β -TCP/HA (SANTOS *et al.*, 2005).

O β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, é um material fosfato de cálcio que possui cristal romboédrico com as medidas de $a = 10,43\text{\AA}$ e $c = 37,37\text{\AA}$, e apresenta imperfeições na estrutura que levam a grande instabilidade (OKAZAKI e SATO, 1990). O tamanho das partículas de β -TCP e suas propriedades variam de acordo com os parâmetros de síntese. Estes materiais são absorvíveis em condições fisiológicas podendo ser substituídos por osso gradativamente, quando usados como biomateriais em defeitos ósseos (YANG e WANG, 1998; PEÑA e VALLET-REGI, 2003). De acordo com o método de síntese e da estequiometria de β -TCP, observa-se a seguinte ordem de solubilidade (LEGEROS, 2002): CaP amorfo > fosfato dicálcico > fosfato tetracálcico > α -TCP > β -TCP >> HA. A dissolução β -TCP na água depende da razão Ca/P, sendo que há inicialmente, liberação de íons Ca^{+2} , para depois acontecer a liberação de íons PO_4^{-3} (SANTOS, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese de nCaP



Sintetizada por rota de precipitação aquosa, em condições normais de temperatura e pressão.

A solução do precursor denominado SOL_1 tem 0,6 mL de H₃PO₄ lentamente adicionado a 89,4 mL de água deionizada e agitada por 15 minutos em agitador magnético. Já a suspensão do precursor denominado SUS_1 tem 1,1 g Ca(OH)₂ em pó em 10 mL de água deionizada vigorosamente agitado por 15 minutos.

Adiciona-se lentamente SUS_1 à SOL_1 denominando SUS_2, sob agitação magnética por 1 hora e posterior descanso de 24 horas, afim de se obter reação de síntese. Após processo de decantação, o precipitado passa por filtração a vácuo seguida de 3 lavagens com água deionizada, com nova filtração. O material é então submetido a secagem, ainda nas CNTP, por 96 horas.

4.2 Síntese do CIV modificado com nCaP (CIV/nCaP)

Obtido através da adição de 1,1 g de nCaP a 10 g de CIV em pó, com aglutinação seguindo regras do fabricante.

4.3 Ensaio mecânico

Em uma matriz de teflon (4 mm de diâmetro e 8 mm de comprimento) apoiada sobre placa de vidro produz-se corpos de prova (cps) (n=20) de CIV e nCaP. Por seringa específica (Centrix, DFL Ind., São Paulo, SP, Brasil) e sob pressão, insere-se o cimento na matriz, minimizando desta maneira a formação de bolhas no corpo do cimento. Pressiona-se uma tira de poliéster na superfície do cimento com um peso de 500 g pelo tempo de presa, obtendo-se adequado escoamento e lisura superficial da amostra. Submete-se a amostra a 24 horas de descanso em água destilada a $37\pm 1^\circ\text{C}$. Com amostra de 10 cps de G1-CIV e 10 cps de G2- CIV/nCaP realiza-se teste de resistência à compressão em máquina de ensaio universal EZ Test (Shimadzu, Japão), com carga de 200kgf a 1 mm/min, com eixo longo na vertical até que se verifique fratura. O teste de resistência à tração diametral é realizado com 10 cps, mesma carga, mas com velocidade de 0,5 mm/min e eixo longo na horizontal.

Realizou-se teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e homoelastidade nos resultados, além de teste estatístico paramétrico (ANOVA), verificando diferenças entre os grupos através do software SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*, para Windows, versão 17.0, SPSS Inc., USA), com 95% de nível de significância.

4.4 Caracterização

Utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV, FEI-INSPECT™ S50) acoplada a espectrômetro de energia dispersiva (EDS, EDAX GENESIS) com tensão de 15KV para obtenção de imagens, avalia-se as morfologias das nCaP e CIV/nCaP. Reveste-se as amostras com fina camada de carbono por aspensão em baixa taxa de deposição e refrigeradas. Utilizando o software *ImageJ* (versão 1.50, National Institutes of Health), que seleciona 100 amostras de forma aleatória para se fazer a medição, obtém-se o tamanho e distribuição das CaP. Padrões de difração de raios-X (DRX) foram obtidos utilizando um difratômetro Philips-PANalytical modelo EMPYREAN, utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ com $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ e cristal monocromado de grafita, velocidade de varredura de $0.06^\circ.\text{s}^{-1}$ e intervalo $4^\circ \leq 2\theta \leq 90^\circ$.

4.5 Ensaio de citotoxicidade

Realiza-se ensaios (3-(4,5-dimethylthiazol-2yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (MTT) e Live/Dead, de acordo com a ISO10993-5:1999 (*Biological evaluation of medical devices; Part 5: tests for in vitro cytotoxicity and Part 12-7; Sample preparation of extracts of test materials*)

5. RESULTADOS

Houve diferença estatisticamente significativa na comparação com CIV/nCaP para os testes de resistência à compressão (RC) e resistência à tração diametral (RTD) (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios (MPa) da resistência à compressão e tração diametral.

Valores médios (MPa) da resistência à compressão e tração diametral				
Amostras	RC	<i>P</i> *	RTD	<i>P</i> *
CIV	21,8±6	p=0,002	24,4±7	p<0,001
CIV/nCaP	39,2±4		47,1±4	

*Teste ANOVA

As avaliações morfológicas das nCaP mostram considerável heterogeneidade na forma das partículas sintetizadas (Figura 4A). Os espectros de EDS característicos estão apresentados na Figura 4B apresentando picos associados aos elementos Ca e P, e uma razão Ca/P igual a 1,8, sugerindo a precipitação da fase de hidroxiapatita. O processo de síntese possibilitou a formação de partículas na escala nanométrica (Figura 4C).

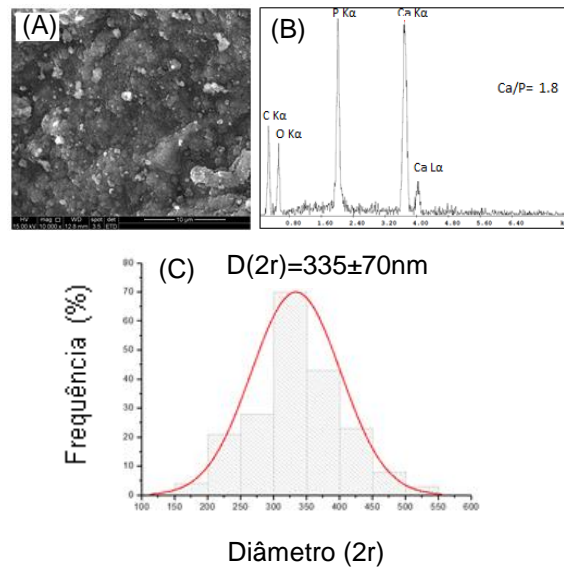


Figura 4: Análise morfológica de nCaP ((A) imagem MEV). Análise química: espectros de EDS (B) e histograma do tamanho médio das nCaP (C).

A modificação do CIV permitiu a síntese de biocompósitos homogêneos com maior rugosidade superficial (Figura 5A). Os espectros de EDS apresentaram picos de Ca^{2+} e P elementos atribuídos as nCaP como ilustrado na Figura 5B. Além disso, as análises de mapeamento do Ca-K α revelaram que as partículas de nCaP estão uniformemente dispersas na matriz dos compósitos sem a detecção de qualquer segregação (Figuras 5C e 5D).

Os padrões de DRX das nCaP e CIV/nCaP apresentam picos bem definidos com perfis semelhantes (Figura 6). As partículas nCaP sintetizadas apresentaram os picos característicos principais de HA em 2 teta iguais a $31,7^\circ$ (211), $32,8^\circ$ (300), $32,2^\circ$ (112), e $25,9^\circ$ (002), entre outros picos de menores intensidades (*International Centre for Diffraction Data, JCPDS 86- 1203*). Foram observados também, três picos associados a fase do β fosfato de tricálcio (β -TCP) foram detectados em 2 teta iguais a $28,0^\circ$, $31,2^\circ$ e $34,5^\circ$. Os padrões de DRX do CIV/nCaP apresentaram picos mais largos devido à presença dos polímeros amorfos, e um pico característico da fase hidroxiapatita em 2 theta em aproximadamente $28,0^\circ$. A presença de fases secundárias, tais como α -TCP, β -TCP, CaO não foram detectadas.

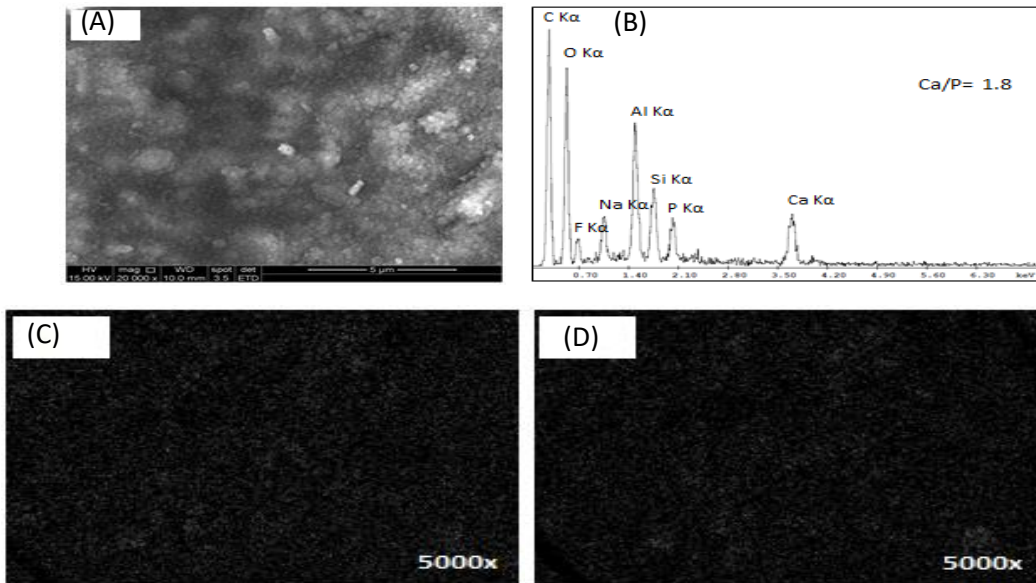


Figura 5: Análise morfológica de CIV/nCaP ((A) imagem MEV). Análise química: espectros de EDS (B) e mapeamento dos elementos Ca K α (C) e P K α (D).

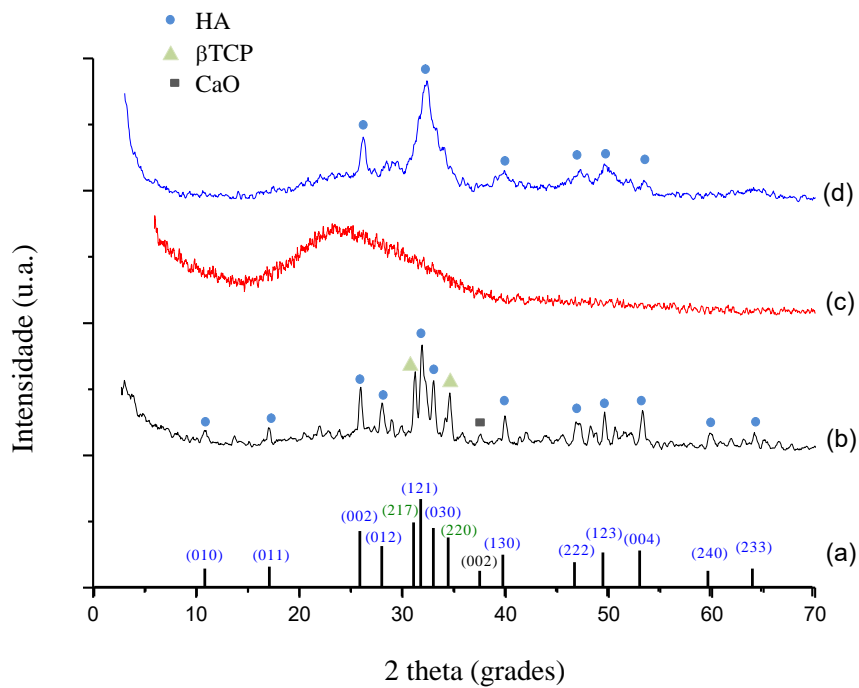


Figura 6: Espectros de DRX da referência CaP (ICDD-96-900-3549)(A), nCaP(B), CIV(C) e CIV/nCaP(D).

As HBMS em contato com CIV não mostraram qualquer diferença significativa na viabilidade quando comparados com o grupo de controle. Observa-se que nas células em contato com CIV/nCaP houve um aumento significativo na viabilidade de $12\pm 6\%$, quando comparado com o grupo de controle. Além disso, nota-se aumento de 22% na CIV/nCaP comparado com CIV (Figura 7).

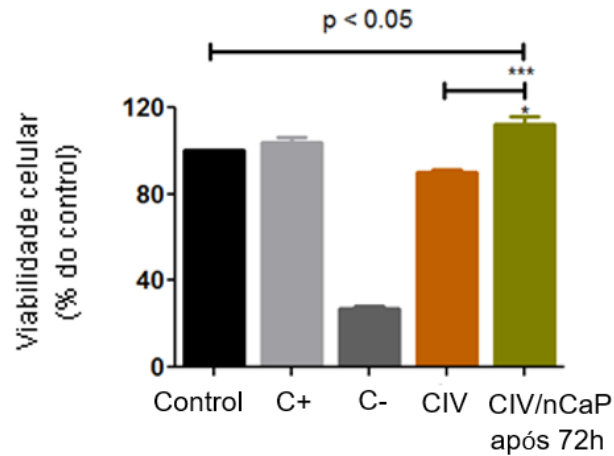


Figura 7: Ensaio de MTT após 24 h de incubação contato direto com células tronco mesenquimais da medula óssea.

A Figura 8 confirma a biocompatibilidade dos materiais. As células HBMS em contato com as amostras apresentaram padrões semelhantes de fluorescência quando comparada com o grupo de controle.

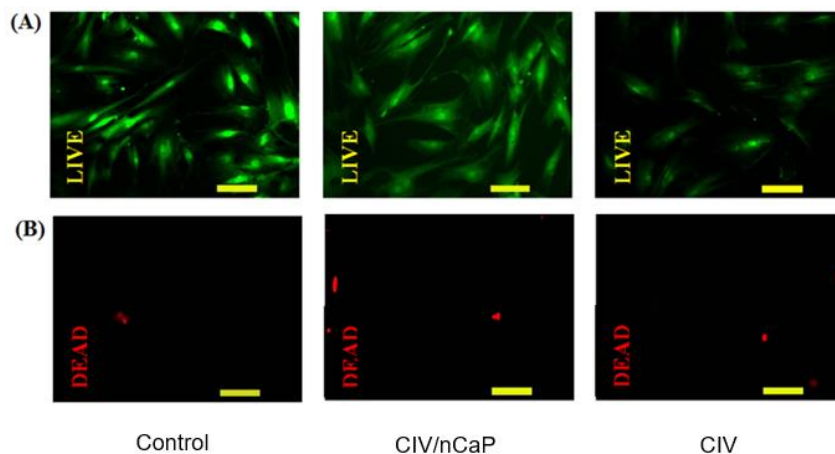


Figura 8: Ensaio Live/Dead com células HBMs após 72 h de contato direto. Células vivas ((A), verde) e células mortas ((B), vermelho) no controle, nas amostras CIV/nCaP e CIV (bar = 100 μm ; 200x).

5. CONCLUSÃO

A utilização com fosfatos de cálcio vem aumentando consideravelmente como matéria prima para confecção e modificação dos biomateriais. Já as partículas de tamanho nanométrico vem demonstrando ser uma característica das partículas que podem promover melhoras consideráveis aos parâmetros dos materiais odontológicos. Como objetivo desse estudo, desenvolveu-se uma modificação para o cimento de ionômero de vidro; um biomaterial largamente estudo e conhecido na odontologia, com variadas funções; de forma a aumentar a sua bioatividade e ao mesmo tempo suas características biomecânicas.

Com a modificação do CIV por partículas nanométricas de fosfato de cálcio, houve um aumento estatisticamente considerável da resistência a compressão e tração diametral do biomaterial. A inserção de partículas de CaP's no biomaterial apresentou uma considerável heterogeneidade, sendo que o biocomposito apresentou-se homogêneo.

A modificação do cimento de ionômero de vidro também resultou em um aumento significativo da viabilidade celular, quando comparado com o grupo controle. Além de todos os fatores, o CIV modificado por partículas nanométricas de fosfato de cálcio apresentou melhor estabilidade biológica, demonstrando que o incremento das CaP's no biomaterial acarreta em bons resultados.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Jéssika Raíssa Medeiros de et al. Avaliação de rugosidade, dureza e superfície dos cimentos de ionômero de vidro após diferentes sistemas de acabamento e polimento. **Revista de Odontologia da Unesp**, [s.l.], v. 46, n. 6, p.330-335, 7 dez. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.07217>.

BILGIN, Z; OZALP, N. Fluoride release from three different types of glass ionomer cements after exposure to NaF solution and APF gel. **J Clin Pediatr Dent**, Si, v. 22, n. 3, p.237-241, fev. 1998. PMID:9641099

HAMILTON, I.r.. Biochemical Effects of Fluoride on Oral Bacteria. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 69, n. 2, p.660-667, fev. 1990. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/00220345900690s128>.

LOPES, Célia Maria Condeixa de França et al. Análise da dureza de um novo material restaurador para ART: Glass Carbomer. **Revista de Odontologia da Unesp**, [s.l.], v. 45, n. 2, p.65-70, 26 jan. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.10915>.

MANDARINO, F. **Cimentos de ionômero de vidro**. Disponível em: <www.forp.usp.br/restauradora/dentistica/temas/cim_ion_vid/cim_ion_vid.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2019.

MARTINS, L R M et al. Liberação de flúor de restaurações de ionômero de vidro e a sua incorporação ao esmalte dental após ciclos de

desmineralização/remineralização. **Revista Odonto Ciência**, Si, v. 51, n. 21, p.321-333, mar. 2006.

MENEZES-SILVA, Rafael et al. Biocompatibility of a New Dental Glass Ionomer Cement with Cellulose Microfibers and Cellulose Nanocrystals. **Brazilian Dental Journal**, [s.l.], v. 28, n. 2, p.172-178, abr. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201701059>.

PASCOTTO, R C; NAVARRO, M F L. Aplicações clínicas dos cimentos de ionômero de vidro. **Estética em Clínica Odontológica**, Curitiba, p.1-6, maio 2004

PEREIRA, I V A et al. Liberação de flúor por dois cimentos de ionômero de vidro com relação às proteções por presa – estudo in vitro. **Rev. Fob**, Si, v. 34, n. 7, p.21-26, dez. 1999.

SIMMONS, Jj. The miracle mixture. glass ionomer and alloy powder. **Tex Dent J**, Si, v. 100, n. 10, p.6-12, out. 1983. PMID:6579699

SOUSA, Lorena Sena Alves de et al. Estudo comparativo in vitro da resistência ao desgaste entre o cimento de ionômero de vidro pó/líquido e o encapsulado. **Revista de Odontologia da Unesp**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.51-55, fev. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.03616>.

TENUTA, L M et al. Liberação de flúor de quatro cimentos de ionômero de vidro restauradores. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo.**, Si, v. 11, n. 4, p.1-10, out. 1997.

TYAS, Martin John. Clinical evaluation of glass-ionomer cement restorations. **Journal Of Applied Oral Science**, [s.l.], v. 14, n. , p.10-13, 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-77572006000700003>

VIEIRA, I M et al. O cimento de ionômero de vidro na odontologia. **Rev.saúde.com**, Si, v. 2, n. 1, p.75-84, jan. 2006.

Wilson, AD, Kent, BE. A new translucent cement for dentistry: the glass ionomer cement. **Br Dent J.**, Si, v. 132, n. 4, p.133-135, fev. 1972. PMID:4501690.